



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
و خدمات بهداشت و درمان

دانشکده داروسازی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد

عنوان:

بررسی سمیت حاد و تحت حاد نانوذرات زینک بیوژنیک در موش سوری

توسط:

آزاد سلیمی

اساتید راهنما:

دکتر حمیدرضا رحیمی / دکتر مجتبی شکیبائی / دکتر الهام جعفری

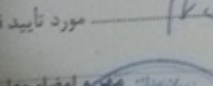
استاد مشاور:

دکتر حمید فروتن فر

سال تحصیلی (شهریور ۹۸)

شماره پایان نامه (۱۱۱۹)

بسمه تعالی
 تاریخ
 شماره
 پیوست
 دانشگاه علوم پزشکی کرمان
 تحصیلات تکمیلی دانشگاه
 جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای آزاد سلیمی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته سم شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
 تحت عنوان بررسی سمیت حاد و تحت حاد نانوذرات زینک بیوژنیک در موش سوری در ساعت ۹ روز یکشنبه مورخ ۹۸/۰۷/۰۷ با حضور
 اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استاد(ان) راهنما	۱- دکتر حمیدرضا رحیمی	
	۲- دکتر مجتبی شکیبایی	
	۳- دکتر الهام جعفری	
ب: استاد(ان) مشاور	۱- دکتر حمید فروتن فر	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	دکتر محمودرضا حیدری	
	دکتر سمیه کرمی مهاجری	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	دکتر بهزاد بهنام	
	دکتر سید نورالدین نعمت الهی	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه و نمره مورد تایید قرار گرفت.



مقدمه: روی (Zn) یک عنصر شیمیایی با نماد Zn و عدد اتمی ۳۰ می‌باشد که اولین عنصر در گروه دوازدهم جدول تناوبی بوده و در برخی موارد به لحاظ شیمیایی به منیزیم شبیه است، که هر دو عنصر فقط یک حالت اکسیداسیون معمولی (+۲) را نشان می‌دهند و یون‌های Zn^{+2} و Mg^{+2} دارای اندازه مشابه هستند، تاکنون روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیاری برای سنتز نانوذرات استفاده شده است و به‌منظور تولید نانوذراتی که شکل و اندازه خاصی دارند مرتباً روش‌های جدیدتری در حال تکامل هستند. اگرچه برای سنتز نانوذرات روش‌های فوق به طور موفقیت‌آمیزی استفاده شده‌اند اما اغلب این روش‌ها دشوار و پرهزینه بوده و در آنها از مواد شیمیایی مضر استفاده شده است. بنابراین در حال حاضر محققین به روش‌های سنتزی جدید توجه ویژه‌ای دارند که دوستدار محیط‌زیست بوده و قابلیت انجام پژوهش را دارند. در این بین تولید نانوذرات با استفاده از روش‌های بیولوژیک از عصاره آبی برگ گیاه *Lavandula vera* که در مطالعات قبلی توا‌هایی احیاکنندگی آن به اثبات رسیده است به عنوان احیاکننده یون‌های روی در حضور امواج ماکروویو استفاده خواهد شد. نانوذرات حاصل از بیوتکنولوژی نیز از موضوعاتی است که توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نانوبیوسنتز مزایای زیادی را دارا می‌باشد که شامل یکنواختی در شکل ذرات، اندازه و سمیت کمتر می‌باشد. بااین حال اطلاعات کمی برای تأیید این ویژگی‌ها وجود دارد. بنابراین، در این مطالعه سمیت حاد و تحت حاد نانوذرات بیوژنیک روی که با به‌کارگیری عصاره آبی برگ گیاه تولید شده است در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: تولید نانوذرات با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه *Lavandula vera* در حضور امواج ماکروویو انجام خواهد شد. در مرحله بعد نانوذرات تولیدی جداسازی شده و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آنها بررسی می‌شود. سمیت حاد این نانوذرات در موش سوری تعیین و میزان دوز متوسط کشنده آنها محاسبه و درنهایت سمیت خوراکی تحت حاد نانوذرات روی در دوزهای پایین‌تر از دوز متوسط کشنده در موش‌های سوری در یک دوره ۱۴ روزه تعیین شد و سطح سرمی آنزیم‌ها و فاکتورهای مختلف از جمله سطح مالون دی-آلدئید و گلووتاتیون و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز و همچنین میزان بیان پروتئین با استفاده از تکنیک وسترن بلات و مقدار روی در بافت با استفاده از تکنیک اتمیک ابزوربشن و

همچنین تغییرات پاتولوژیک بافت‌های مختلف از جمله کلیه، بیضه، مغز، کبد، قلب، و طحال در گروه‌های گوناگون بررسی شد.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی انتقالی و پراکندگی طیف اشعه ایکس نشان داد که نانوذرات بیولوژیک روی کروی شکل و محدوده اندازه آنها ۳۰ تا ۸۰ نانومتر است. بررسی سم‌شناسی نشان داد که مقادیر دوز کشنده برای نانوذره بیوژنیک روی و روی سولفات ($ZnSO_4$) به ترتیب بالاتر از ۵ گرم بر کیلوگرم و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود که همراه با علائم سمیت شامل کاهش وزن بدن، افزایش سطح مالون دی‌آلدئید و کاهش مقدار گلوتاتیون، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز و تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی می‌باشد. در درمان با نانوذره بیوژنیک روی تغییرات هیستوپاتولوژیکی واضح مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نانوذرات بیوژنیک روی در مقایسه با روی سولفات کمتر سمی بود و دوز NOAEL (دوز بدون مشاهده اثر مضر) نانوذره بیوژنیک روی در مطالعه ۱۴ روزه سمیت خوراکی تحت حاد پایین‌تر از ۱ گرم بر کیلوگرم می‌باشد.

کلمات کلیدی: دوز متوسط کشنده، نانوذره بیوژنیک روی، استرس اکسیداتیو، سمیت نانوذره

Abstract

Background and Objectives: new physical and chemical methods for reaching nanoparticles (NPs) with specific composition and size, suitability of energy use, low toxicity and easy to operate research. In the field of advancement in the development of green technologies in the synthesis of nanomaterials, NPs are produced using biological systems due to their high purity, convenience and low cost, non toxicity and NP production with new properties. synthesis of NPs using biological methods eliminates this problem and makes them more biocompatible. Therefore, in this study, we purposed to describe acute and sub-acute toxicological aspects of Zn NPs in which were prepared through a green microwave-assisted synthesis of Zn NPs using *Lavandula vera* leaf extract.

Method: The Zn NPs were prepared by a green microwave-assisted synthesis method in the presence of *Lavandula vera* leaf extract. Determination of median lethal dose (LD50) of Zn NPs and the subacute toxicity after 14 days of substance toxicity. Oxidative stress (OS) values including determination of malondialdehyde (MDA) concentration, glutathione (GSH) content, the activity of antioxidant enzymes such as SOD and catalase (CAT), and caspase-3 expression, was evaluated as biochemical and molecular biogenic Zn NPs undertaken toxicity mechanisms. Biogenic Zn NPs distribution in tissues and histopathological changes were also examined to confirm the biochemical/molecular results.

Results: The western blotting was used to determine the cleaved-caspase-3 expression in the sampled tissues. Flame atomic absorption spectrophotometer (AAS) was applied to estimate the Zn levels in tissues. The SEM analyses revealed that the biogenic Zn NPs were spherical-shaped with the size range of 30-80 nm. The LD50 value above 5 g/kg indicated that biogenic Zn NPs could be classified as nontoxic chemicals. In subacute toxicity, no significant differences were

found in the body weight as well as hematological and oxidative stress (OS) biomarkers after exposure to Zn NPs at the dose of 1 g/kg in comparison to the control. The AAS results indicated that Zn NPs were mainly distributed in the testis, liver, and brain. The findings of histology images of Zn NPs at the dose of 1 g/kg were similar to those of the control. Furthermore, no significant differences were observed in cleaved-caspase-3 expression after exposure to Zn NPs at the dose of 5 g/kg.

Conclusion: The results demonstrated that changes in the OS were not related to caspase pathway and the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of biogenic Zn NPs in 14-days subacute toxicity study was lower than 1 g/kg

Keywords: Zn nanoparticles; median lethal dose; subacute toxicity; oxidative stress; NOAEL



Kerman University
of Medical Sciences

School of Pharmacy

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science

Title:

Evaluation the acute and subacute toxicity of biogenic Zinc nanoparticles in mice

By:

Azad Salimi

Supervisors:

1- (Dr. Hamid Reza Rahimi) |2-(Dr. Mojtaba Shakibaie)

|3-(Dr. Hamid Forootanfar)

Adviser:

1-(Dr. Elham Jafari)

Thesis

No. **1119**

Date (**September 2019**)